

ANALISIS LEMAK ANJING DALAM BAKPAO AYAM MENGGUNAKAN FTIR (FOURIER TRANSFORM INFRARED) DIKOMBINASI KEMOMETRIKA

DOG FAT ANALYSIS IN CHICKEN MEATBUN USING FTIR (FOURIER TRANSFORM INFRARED) WITH CHEMOMETRIC COMBINATION

Any Guntarti *, Muhamad Ali Zainal Abidin

Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta

*Penulis Korespondensi, e-mail: any_guntarti@yahoo.co.id

ABSTRAK

Bakpao ayam adalah makanan yang dikenal masyarakat Indonesia. Bahan utama umumnya daging ayam yang kemudian dikukus. Daging yang digunakan, kadang belum tentu terjamin keasliannya. Penelitian ini bertujuan mengetahui dan mendeteksi adanya kandungan lemak anjing dalam produk makanan bakpao ayam. Analisis dengan spektrofometri FTIR yang dikombinasi kemometrika dapat memberikan informasi adanya kandungan lemak anjing dalam bakpao ayam. Model analisisnya dengan membuat variasi konsentrasi campuran daging anjing dengan daging ayam. Bakpao produk di pasaran diambil empat sampel yang dijual di kota Yogyakarta dengan teknik *stratified random sampling*. Hasil spektra FTIR dianalisis dengan kemometrika. Analisis kuantitatif menggunakan *Partial Least Square* (PLS), dan analisis kualitatif dengan *Principles Component Analysis* (PCA). Hasil optimasi bilangan gelombang diperoleh pada 1226-840 cm^{-1} . Analisis dengan PLS diperoleh persamaan $y=0,9969x+0,1697$; nilai R^2 0,9969; RMSEC 1,38%; RMSEP 0,27%; RMSECV 1,31%. Analisis dengan PCA menunjukkan bahwa keempat sampel bakpao pasaran pedagang kaki lima di kota Yogyakarta tidak mengandung lemak anjing.

Kata kunci : Daging anjing, FTIR, PLS, PCA, Bakpao

ABSTRACT

Chicken Meatbuns are a food known in Indonesian society. The main ingredients are generally chicken meat which is then steamed, but the meat used is not necessarily guaranteed authenticity. This study aims to find out and detect the presence of dog fat content in chicken meatball food products. Combination of chemometric FTIR analysis aims to detect dog fat contamination in chicken dumplings by making fat extract variations in the concentration of dog meat mixed with chicken meat and taking four market banana samples in the city of Yogyakarta with stratified random sampling technique. FTIR spectra results were analyzed by chemometrics to find out samples of chicken meatbuns contaminated with dog fat. The spectra of various concentration samples inputted into the PLS analysis obtained quantitative data calibration models and sample spectra of the meatbun market were inputted into the PCA analysis for grouping of samples containing dog fat. FTIR analysis results of PLS chemometrics combination obtained optimization wave number 1226-840 cm^{-1} and obtained calibration equation PLS $y = 0.99695x + 0.1697$; value of R^2 0.9969; RMSEC 1.38%; RMSEP 0.27%; RMSECV 1.31%. Conclusion from the results of PCA analysis of the four samples of chicken meatbuns, street food in the city of Yogyakarta are free from dog fat.

Keywords: Dog meat, FTIR, PLS, PCA, Meatbun

PENDAHULUAN

Pasar produk halal telah meningkat secara dramatis, terutama di negara-negara dengan mayoritas penduduknya adalah muslim seperti di Indonesia, Malaysia, Pakistan, dan Timur tengah (Riaz and Chaudry, 2003). Seorang muslim didorong untuk memperoleh makanan, obat, dan kosmetika yang halal dengan standar kualitas yang tinggi. Bagi seorang muslim, sudah menjadi kewajibannya untuk mengkonsumsi produk apapun yang halal (Rohman and Che Man, 2012). Halal merupakan suatu syarat makanan yang harus dikonsumsi dan menjadi ketetapan wajib bagi umat beragama Islam (Mursyidi, 2013). Suatu makanan dikatakan halal jika tidak ada dalil yang melarangnya. Makanan halal pun bisa menjadi haram apabila makanan itu tidak baik untuk dikonsumsi (Regenstein *et al.*, 2003).

Daging anjing diharamkan dikonsumsi oleh masyarakat muslim. Masalah yang cukup mendapat perhatian saat ini banyaknya pemalsuan daging anjing pada produk makanan seperti bakpao, sosis, abon, dan bakso. Pemalsuan dengan menggunakan daging anjing cukup menguntungkan sejak perdagangan daging anjing liar di beberapa negara dilakukan dengan harga murah (Ali *et al.*, 2014).

Beberapa pendekatan digunakan untuk mendeteksi dan mengkuantifikasi kandungan turunan lemak anjing dan turunan babi. Pendekatan pertama adalah dengan menentukan perbandingan (rasio) antara beberapa kandungan kimia dan mengasumsikan bahwa rasio ini adalah tetap. Pendekatan kedua adalah dengan mencari penanda (*marker*) tertentu dalam produk makanan, baik berupa kandungan kimia ataupun komponen morfologi yang mampu membuktikan adanya turunan babi dalam makanan. Sementara pendekatan ketiga dilakukan dengan melakukan analisis fisika-kimia (Cordella *et al.*, 2002). Beberapa metode analisis telah dikembangkan untuk analisis turunan babi baik dalam bahan dasar (*raw materials*) maupun dalam produk makanan seperti spektrofotometri *Fourier transform infrared* (FTIR) (Guntarti *et al.*, 2015), *High Performant Liquid Chromatography* (HPLC) (Rohman *et al.*, 2012), *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (Rohman *et al.*, 2018), *differential scanning calorimetry* (DSC) (Tan and Man, 2012), metode-metode yang berdasarkan pada DNA seperti *polymerase chain reaction* (Guntarti *et al.*, 2017), dan metode analisis berdasarkan identifikasi bau (*electronic nose*) (Marina *et al.*, 2010).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya daging anjing dalam produk bakpao dengan model *Partial Least Square* (PLS) dan mengelompokkan lemak anjing dengan lemak ayam menggunakan *Principles Component Analysis* (PCA) (Rohman and Che Man, 2012).

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan dalam penelitian ini berupa sampel bakpao dengan variasi konsentrasi (daging ayam, daging anjing, bawang, rempah dan campuran bahan tambahan (tepung terigu, air es, garam, baking powder), sampel pasaran didapat dari penjual bakpao ayam yang dijual oleh pedagang kaki lima, *n-hexane*, Na_2SO_4 anhidrat

Alat dalam penelitian ini berupa: blender, Soxhlet, glassware, effendorf, Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infrared*) Shimadzu Pristage-21.

Jalannya Penelitian

Sampel bakpao terdiri dari sampel validasi dan kalibrasi, serta sampel pasaran diperoleh dari pedagang kaki lima di sejumlah tempat di kota Yogyakarta. Daging anjing dan daging ayam dihaluskan dan ditambahkan campuran bahan tambahan. Tabel I menyajikan formulasi sampel dengan variasi konsentrasi untuk validasi dan kalibrasi.

Tabel I. Formula Bakpao dengan Variasi Konsentrasi.

Konsentrasi (%)	Ayam (g)	Anjing (g)	Bumbu (g)
Ayam 100	25,00	-	10,00
Anjing 100	-	25,00	10,00
(An-Ay) 20	20,00	5,00	10,00
(An-Ay) 40	15,00	10,00	10,00
(An-Ay) 60	10,00	15,00	10,00
(An-Ay) 80	5,00	20,00	10,00
(An-Ay) 90	2,50	22,50	10,00

Note: An-Ay = Anjing-Ayam.

Ekstraksi lemak dari bakpao dengan variasi konsentrasi dan bakpao pasaran : Ditimbang sejumlah berat isi bakpao, dibungkus dan dilakukan proses maserasi dengan alat *Soxhlet*, pelarut *n-hexane*. Ekstraksi selama 4-7 jam, suhu 70°C. Setelah ekstraksi ditambahkan Na₂SO₄ *anhidrat*. Hasil ekstrak lemak kental dipindahkan ke *effendorf* selanjutnya dianalisis dengan spektrofotometer FTIR.

Analisis lemak dengan spektroskopi FTIR : Ekstrak sampel dengan variasi konsentrasi dan sampel pasaran dianalisis rentang bilangan gelombang pada 4000-400 cm⁻¹. Berbagai data spektrum FTIR yang didapat dari pembacaan ekstrak lemak diolah kedalam program *Software Horizon MB™* kemometrika yang merupakan perangkat lunak komputer. dengan teknik penanganan sampel ATR (*attenuated total reflectance*). Hasil analisis instrumen FTIR dianalisis kalibrasi multivariat PLS dan PCA. Akurasi dan presisi ditunjukkan melalui nilai RMSEC (*root mean square error of calibration*) dan nilai R² yaitu koefisien determinasi, kedua parameter ini didapat dari *software Horizon MB™*. Sedangkan nilai RMSECV (*root mean square error of cross validation*) dan RMSEP (*root mean square error of prediction*) didapat dari *software* fungsi *Microsoft Excel 2010*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

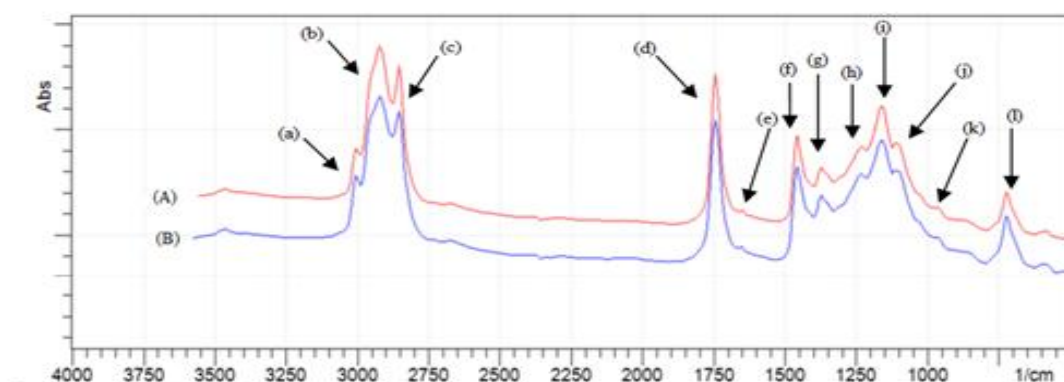
Ekstraksi Lemak dari Bakpao

Ekstraksi lemak dengan *Soxhlet*. Lemak memiliki tingkat kepolaran yang berbeda berdasarkan teori *like dissolves like*. Lemak bersifat lebih polar seperti (glikolipid) larut dalam pelarut yang lebih polar (alkohol) sedangkan lemak yang bersifat non polar seperti (trigliserid) lebih larut dalam pelarut non polar seperti *n-hexan*. Pemilihan pelarut *n-hexan* karena kelarutannya sesuai dengan lemak (trigliserid) yaitu non polar. Pemilihan pelarut *n-hexan* karena memiliki rantai struktur karbon yang panjang C₆H₁₄ bersifat non polar, tidak bersifat toksik, derajat polaritas kecil, dan memiliki titik didih yang rendah. Ekstrak lemak dengan pelarut *n-hexan* yang telah dihasilkan ditambahkan serbuk Na₂SO₄ *anhidrat* bersifat higroskopik yang dapat mengikat air untuk menghilangkan sisa air dalam ekstrak (Sheskey *et al.*, 2009).

Interpretasi Spektra FTIR Lemak Anjing dalam Bakpao Ayam

Spektra FTIR dapat dibedakan dengan senyawa atau sampel lainnya dengan melihat posisi bilangan gelombang, intensitas, dan jumlah puncak (Rohman and Che Man, 2011^a). Tiap sampel memiliki spektra IR yang berbeda-beda karena memiliki sifat *fingerprint* yang artinya tidak semua sampel yang sama memiliki spektra IR yang sama. Daerah tengah dari IR yang sering digunakan untuk analisis sampel yaitu pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Sumbu (x) sebagai bilangan gelombang penunjuk gugus fungsi dan sumbu (y) sebagai intensitas serapan.

Bilangan gelombang direspon oleh spektrometer FTIR dan menjelaskan jenis gugus fungsi yang terdapat pada sampel analit. Hasil spektra IR dari sampel bakpao anjing dan sampel bakpao ayam disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. (A Merah) Spektra Lemak Bakpao Anjing 100% dan (B Biru) Spektra Lemak Bakpao Ayam 100 %.

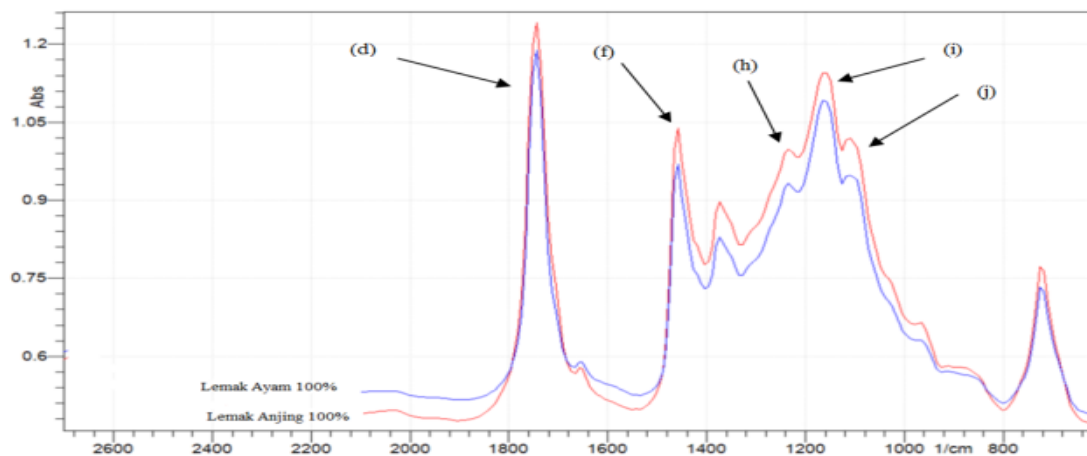
Dari Gambar 1 merupakan dua buah spektra FTIR dari ekstrak lemak anjing 100% dan lemak ayam 100% yang dilakukan *scanning* pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Berdasarkan pengamatan antara lemak anjing dan lemak ayam tidak berbeda secara visual. Kedua spektra ini menunjukkan puncak-puncak yang cenderung identik karena kedua komponen penyusun senyawa ini merupakan trigliserida, namun intensitas serapan relatif berbeda pada tiap puncak dari masing-masing bilangan gelombang (Rohman and Che Man., 2011^b). Penjelasan gugus fungsi pada bilangan gelombang akan disajikan pada Tabel II.

Tabel II. Gugus Fungsi dan Model Vibrasi pada Lemak Anjing dan Lemak Ayam pada Bakpao Variasi Konsentrasi.

Pita	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)			Gugus Fungsi	Model Vibrasi	Intensitas
	Anjing	Ayam	Acuan*			
a	3001	3001	3100-3000	C=C-H (<i>cis</i>)	Ulur	Lemah
b	2924	2924	3000-2850	C-H (CH ₃)	Ulur Asimetrik	Sangat Kuat
	2854	2854	3000-2850	C-H (CH ₂)	Ulur Simetrik	Sangat Kuat
c	2854	2854	3000-2852	C-H (CH ₂)	Ulur Simetrik	Sangat Kuat
d	1744	1743	1750-1730	C=O (Ester)	Ulur	Sangat Kuat
e	1722	1720	1725-1700	C=O (Karboksilat)	Tekuk	Sedang
	1651	1658	1680-1600	C=C (Alkena)	Ulur	Lemah
f	1374	1373	1450-1375	C-H (CH ₃)	Tekuk Simetris	Sedang
g	1226	1226	1300-1000	C-O (Ester)	Ulur	Sedang
h	1165	1165	1300-1000	C-O (Ester)	Ulur	Sedang
i	1111	1111	1300-1000	C-O (Ester)	Ulur	Sedang
j	964	964	968	C=C-H (<i>trans</i>)	Tekuk Keluar	Sedang
k	725	725	723	HC=CH (<i>cis</i>)	Tekuk Goyang	Sedang

* : Pavia, D.L., (2008)

Penafsiran secara mendalam dilakukan pada model spektrum Gambar 3, dimana daerah d, f, h, i, dan j adalah daerah sidik jari atau pembeda keduanya.

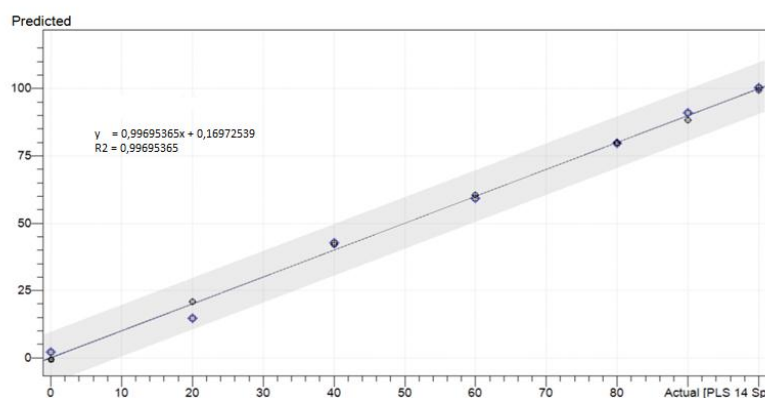
**Gambar 2.** Perbesaran Spektrum Lemak Anjing dan Lemak Ayam Daerah *Fingerprint*

Pada Gambar 2, menunjukkan perbedaan intensitas absorbansi pada pola puncak bilangan gelombang di daerah *fingerprint*. Pada puncak (h,i,j) bilangan gelombang 1400-1000 cm⁻¹ terdapat perbedaan intensitas puncak, lemak anjing (merah) memiliki intensitas absorbansi yang lebih besar dari lemak ayam (biru). Penentuan bilangan gelombang lemak anjing dan lemak ayam dipilih pada bilangan gelombang yang telah dioptimasi 1250-800 cm⁻¹ karena pada kisaran ini terdapat perbedaan yang mencolok dari kedua spektra lemak anjing dan lemak ayam. Kemudian dilakukan analisis kuantitatif PLS daerah bilangan gelombang 1250-800 cm⁻¹ dengan *software Horizon MB™*.

Analisis Kuantitatif Kemometrika PLS

Analisis kuantitatif dalam penelitian ini dilakukan menggunakan aplikasi kemometrika *Horizon MBTM* dengan 2 metode, yaitu *Partial Least Square* (PLS). Analisis kuantitatif PLS dilakukan pada daerah *fingerprint* karena daerah ini menunjukkan perbedaan khas pada intensitas serapan yang signifikan dan menjadi target pemilihan bilangan gelombang optimasi (Sa'adah, 2012) dan dipilih pada bilangan gelombang 1250-800 cm^{-1} . Ratnasari (2016) daerah yang menunjukkan kekhasan lemak anjing pada bilangan gelombang 1218,08 cm^{-1} dan 1123,15 cm^{-1} .

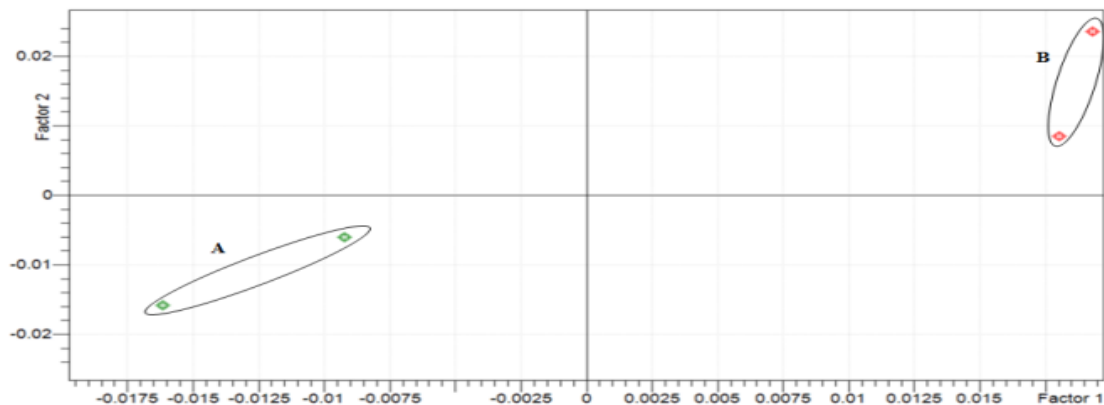
Hasil analisis kuantitatif dengan PLS diperoleh $y=0,9969x+0,1697$, nilai Koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9969. Nilai RMSEC sebesar 1,38%. Gambar 4 menyajikan hubungan keakuratan antara nilai prediksi dan nilai sebenarnya yaitu 99,69% dan RMSEC 1,38%. Nilai kesalahan acak menunjukkan kecil kesalahan dalam prediksi sampel dari persamaan model kalibrasi dengan nilai RMSEP sebesar 0,27% dan RMSECV sebesar 1,31%. Nilai R^2 mendekati 1, nilai RMSEC, RMSEP, dan RMSECV semakin kecil, menunjukkan hasil yang baik.



Gambar 3. Hasil olah data Model Kalibrasi PLS Variasi Konsentrasi Lemak Anjing dan Lemak Ayam (0-100%).

Analisis Principle Component Analysis (PCA)

PCA (*Principal Component Analysis*) metode ini digunakan sebagai pengelompokan sampel pasaran dengan sampel murni bakpao daging anjing dan bakpao daging ayam yang disajikan dalam 4 kuadran. PCA dapat memisahkan sesuai dengan komponen terbesar yang dimiliki suatu sampel dan dapat mengelompokkan sesuai kemiripan (Widyaninggar *et al.*, 2012). Gambar 5 menunjukkan kedua *score plot* terpisah dan mengelompok sesuai kesamaan jenis.

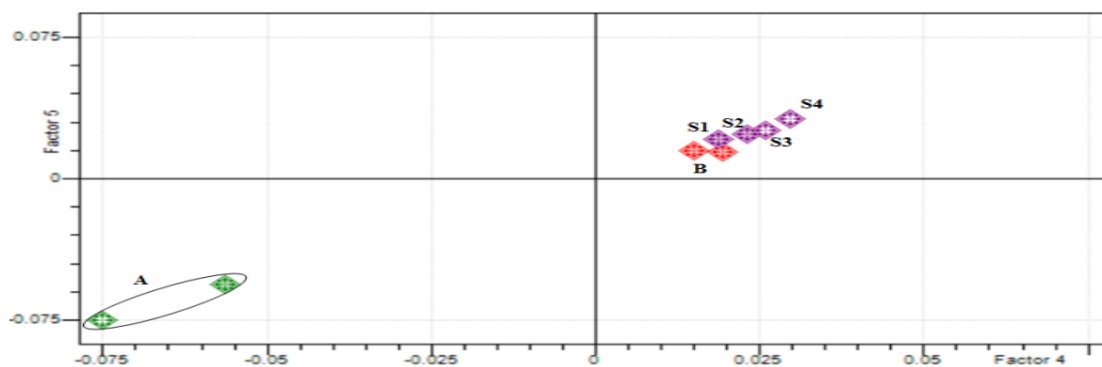


Gambar 5. Hasil replikasi olah PCA Lemak Anjing 100% dan Lemak Ayam 100% .
Ket: Hijau (A) (lemak anjing), Merah (B) (lemak ayam).

Lemak anjing 100% (A) dan lemak ayam 100% (B) mempunyai jarak yang cukup jauh. Sehingga lemak anjing dan lemak ayam dapat dikelompokkan secara terpisah berdasarkan sifat fisika kimia dengan kemometrika PCA.

Analisis Sampel Produk Bakpao Ayam Pasaran yang Beredar di Kota Yogyakarta dengan Permodelan PCA.

Sampel bakpao diambil di 4 wilayah kota Yogyakarta, ekstraksi lemak sama seperti ekstraksi pada sampel sebelumnya. Hasil spektra dianalisis dengan PCA pada bilangan gelombang yang telah dioptimasi $1226-840\text{ cm}^{-1}$. Gambar 6 disajikan hasil PCA dengan sampel di pasaran.



Gambar 6. Hasil *Score Plot* PCA dengan sampel di Pasaran. Keterangan : Lemak anjing (A), Lemak ayam (B)

Gambar 6 menunjukkan bahwa *score plot* sampel (S1,S2,S3,S4) yang merupakan sampel bakpao pasaran, berada pada kuadran lemak ayam 100%, sehingga semua bakpao ayam yang dijual di pasaran tidak mengandung lemak anjing. Pada penelitian Guntarti *et al* (2015), dengan menggunakan sampel bakso sapi yang dipalsukan dengan bakso celeng memberikan informasi ada 2 sampel yang berada pada daerah lemak celeng, sedangkan 8 sampel lainnya ada berada di daerah sampel bakso sapi. Guntarti and Shesilia (2017), dengan menggunakan sampel bakso sapi dipalsukan dengan daging tikus, memberikan kesimpulan ada 3 sampel yang berada di kuadran tikus

KESIMPULAN

Analisis kuantitatif lemak anjing dengan kemometrika PLS diperoleh optimasi bilangan gelombang pada $1226-840\text{ cm}^{-1}$, dengan persamaan kalibrasi, $y=0,9969x+0,1697$, nilai R^2 0,9969; nilai RMSEC 1,38%; nilai RMSEP 0,27% ; dan nilai RMSECV 1,31%. Sampel bakpao di pasaran tidak mengandung lemak anjing.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, M.E., Rahman, M.M., Hamid, S.B., Mustofa, S., Hashim, U., Hanapi, U.K., 2014, "Polymerase Chain Reaction Assay Targeting Cytocrome b Gene for Detection of Dog Meat Adulteration in Meatball Formulation", Meat science, Malaysia, Universiti Malaya Kuala Lumpur.
- Cordella, C., Moussa, I., Martel, A.-C., Sbirrazzuoli, N., and Lizzani-Cuvelier, L., 2002, Recent Developments in Food Characterization and Adulteration Detection: Technique-Oriented Perspectives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**:1751-1764.
- Guntarti, A., Martono S., Yuswant, A., Rohman A., 2015, FTIR Spectroscopy in Combination with Chemometrics for analysis of Wild Boar Meat in Meatball Formulation, *Asian Journal of Biocemisty*, 10(4) : 165-172
- Guntarti, A., Martono, S., Yuswanto, A., Rohman, A., 2017, Analysis of beef meatball adulteration With wild boar meat using real-time polymerase chain reaction, *International Food Research Journal* 24(6): 2451-2455.
- Guntarti, A and Seshilia, R.P., 2017, Application method of *fourier transform infrared* (FTIR) combined With Chemimetrics for Analysis of rat meat (*Rattus diardi*) in meatball beef, *Pharmaciana*, Vol.7 (:2) : 133-140.
- Marina, A.M., Che Man, Y.B. and Ismail, A., 2010, Use of the SAW sensor electronic nose for detecting the adulteration of virgin coconut oil with RBD palm kernel olein. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **87**:263-270.
- Mursyidi, A., 2013, The Role of Chemical Analysis in the Halal Authentication of Food and Pharmaceutical Products. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, **1**:76-86.
- Pavia, D.L., 2008, *Introduction to spectroscopy Statitic*, 4th Edition, USA : Brooks Cole.
- Ratnasari, I.A., 2016, Analisis Kandungan Lemak Anjing dalam Bakso yang Beredar di Pasar Wage Purwokerto Menggunakan FTIR yang dikominasikan dengan Kemometrika Sebagai Autentikasi Halal. *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto
- Regenstein, J., Chaudry, M., and Regenstein, C.E., 2003, The Kosher and Halal Food

- Laws. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **2**: 111-127.
- Riaz, M.N. and Chaudry, M.M., 2003, *Halal Food Production*, 1 edition. ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Rohman, A., and Che Man, Y.B., 2011^a, Application of Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy Combined with Chemometrics for Autentication of Cod-Liver Oil. *Vibrational Spectroscopy*, **55**:141-145.
- Rohman, A., and Che Man., 2011^b "The Optimization of FTIR Spectroscopy Combined with Partial Least Square for Analysis of Animal Fats in Quaternary Mixtures" *Spectroscopy : Biomedical Applications* 3-3: 169-176.
- Rohman, A., Triyana, K., Sisindari, and Erwanto, Y., 2012, Differentiation of lard and other animal fats based on triacylglycerols composition and principal component analysis. *International Food Research Journal*, **19**(2):475-479.
- Rohman, A. and Che Man, 2012, Analysis of pig derivatives for halal authentication studies. *Food Review International*, **28**:97-112
- Rohman, A., Rahayu, W.S., Sudjadi., Martono, S., 2018, Identification of Dog for Halal Autentication with Gas Chromatography Mass Spectroscopy (GCMS) and Chemometrics, *Advanced Science Letter*, Vol 24-1, American Scientific Publishers
- Saadah, M., 2012, "Kombinasi Metode Spektroskopi Inframerah dan Kemometrika untuk Analisis Lemak Babi (*Lard*) dalam Sediaan *Lotion*". *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, Indonesia.
- Sheskey, P.J., Rowe, R.C., Quinn M.E., 2009, *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 418, 685, Lexi-Comp, American Pharmaceutical Association, Inc.
- Tan, C.P. and Man, Y.B.C., 2012, *Analysis of edible oils differential scanning calorimetry*, dalam : Adolf, R.O. (Ed.), *Advance in Lipid Methodology*, Oily Press Lipid Library Series. Woodhead Publishing, pp 1-42.
- Widyaninggar, A.T., Triyana K., dan Rohman A., 2012, Dofferentiation Between Porchine and Bovine Gelatin In Comercial Capsule Shells Based on Amino Acid Profil and Principal Component analysis, *Indonesian J. Pharm*, **23** (2): 96-101.